Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel

Der Phosphorgehalt des Phosphorlebertrans und seiner Ersatzmittel

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Universität Basel

vorgelegt von

Othmar Cueni

von Zwingen (Bern)

BASEL 1931

Druck von Benno Schwabe & Co.

Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel

Der Phosphorgehalt des Phosphorlebertrans und seiner Ersatzmittel

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Universität Basel

vorgelegt von

Othmar Cueni

von Zwingen (Bern)

BASEL 1931

Druck von Benno Schwabe & Co.

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. K. Spiro.
Tag der Promotion: 23. Dezember 1930.
Dekan: Prof. Oppikofer.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus der Schweizerischen Medizinischen Wochenschrift, 61. Jahrgang 1931, Nr. 24, Seite 570.

1586

Die in der fünften Reihe des periodischen Systems zusammengefaßten Elemente: Phosphor, Arsen, Antimon und Wismut sind in der praktischen Medizin seit langem, mindestens seit *Paracelsus* im Gebrauch, der sie seinerzeit gegen den Widerstand der Galenisten neu einführte. Die letzten drei dieser Reihe haben aber erst in den letzten Jahrzehnten eine ungeahnte Bedeutung gewonnen, ich erinnere nur an die Anwendung von Arsen (Salvarsan!) und Wismut (Luestherapie!) ganz besonders aber daran, daß im letzten Jahrzehnt das Antimon als Spezifikum gegen eine ganze Reihe von Krankheiten sich durchgesetzt hat, gegen Protozoonkrankheiten wie Kala-Azar, Orientbeule, Schlafkrankheit, tierische Trypanosomen-Krankheiten, gegen bakterielle Krankheiten, wie das venerische Granulom und Wurmkrankheiten, wie Bilharzia und Clonorchis.

Demgegenüber ist die Bedeutung des Phosphors als Pharmakon etwas zurückgetreten, trotzdem sein Wert als physiologisches Agens in den letzten Jahren immer stärker hervortrat; ist doch die Phosphorsäure nicht nur durch ihre Veresterung mit Eiweiß, Kohlehydrat und Fetten an deren Stoffwechsel beteiligt, sondern auch in ihrer Anhydridform als Pyrophosphorsäure an der Muskelkontraktion.

Man muß sich aber darüber klar sein, daß der Phosphor, was bisher noch nicht bemerkt wurde, sich im Organismus ähnlich verhält wie der neben ihm im periodischen System stehende Schwefel, indem die Oxydationsstufen beider Elemente, Phosphat und Sulfat, sich ganz anders verhalten als dieElemente selbst. Wie es eine jetzt viel studierte Schwefelwirkung gibt, die den Sulfaten nicht zukommt, so gibt es auch offenbar eine Phosphorwirkung, die den Phosphaten nicht zukommt. Die Sache liegt beim Phosphor ganz besonders kompliziert, da ja bekanntlich bei ihm nicht nur die Oxydationsstufe von Einfluß ist auf die Wirkung, zum Beispiel Phosphorwasserstoff, phosphorige Säure und Phosphorsäure, sondern auch die Form des Elementes, indem ja weißer Phosphor giftig, roter aber bekanntlich relativ ungiftig ist.

Seitdem der Phosphor im Jahre 1669 durch *Brandt* in Hamburg dargestellt worden ist, hat er freilich die Medizin dank seiner

technischen Verwertung intensiv beschäftigt. Unzählige Kiefernekrosen fallen ihm zur Last und nicht zuletzt auch viele Selbstmorde, seitdem er das beliebte Streichholzfeuerzeug geworden war. Seine Giftwirkung, speziell die Leberverfettung und Gelbsucht, ist oft konstatiert worden; ein Schutz gegen sie war auch bei Verwendung der Kupfersalze (wir kommen auf die Reaktion unten noch zurück) nur unzureichend. Trotzdem hat es lange gedauert, bis sorgfältige pharmakodynamische Untersuchungen über die Anwendung des Phosphors gemacht wurden. Es war bekanntlich *G. Wegner*, der im Jahre 1882 seine Anwendung empfahl auf Grund der Erfahrungen, speziell bei Knochenbrüchen und periostaler Reaktion. Diese Empfehlung ist allerdings wohl niemals sehr intensiv befolgt worden; dies gilt allerdings nicht für andere Indikationen, die sich auf Grund der Wegner'schen Arbeiten ziemlich bald herausstellten, nämlich für die Behandlung von Rachitis und Osteomalazie. Viele Jahre hindurch ist Phosphoröl hiefür angewandt worden und die Tatsache, daß auch *jetzt wieder* in ähnlichen Gedankengängen der Lebertran und speziell der Phosphorlebertran *Anwendung* findet, war der Grund für die nachfolgenden Untersuchungen.

Es ist ja in der neueren Zeit das Interesse an elementarem Phosphor wieder lebhafter geworden. Ich erwähne von Untersuchungen aus den letzten Jahren die folgenden: Eine genauere Analyse der Phosphorvergiftung an Kaninchen hat *A. Huruya* (8) durchgeführt. Er fand folgendes: die *Leber* wird vom Phosphor zuerst angegriffen, dann folgt eine Funktionsstörung der Niere. Parallel mit dem Grad der Vergiftung steigt der Wassergehalt und die Menge von Nichteiweiß-Stickstoff in der Leber, woraus auf eine beginnende Autolyse geschlossen wird. Der Fett- und Cholesteringehalt der Leber erreicht einen hohen Prozentsatz infolge einer Stauung in dem Lebergewebe, dessen Funktion versagt. Die Produkte der Autolyse gelangen in das Blut, während Fett und fettähnliche Substanzen im Blute nicht vermehrt nachweisbar sind. Wenn die Nieren stärker geschädigt werden, so steigt auch die Nichteiweißfraktion des Stickstoffs im Blut stark an. Sulfate und Aetherschwefelsäuren sind dagegen schon früher und in höherem Ausmaße vermehrt. Auf eine Nierenschädigung kann auch aus der Veränderung der Stickstoffausscheidung im Harn geschlossen werden. (Abnahme der Stickstoffausscheidung.) Das Verhältnis des Harnstoff-Stickstoffes zum Gesamt-Stickstoff ist immer vermindert, was eine Störung der Harnstoffbildung in der Leber anzeigt.

Den Angaben von *Wegner* ist aber in jüngster Zeit widersprochen worden. *H. Hayashi* (6) fand bei Frakturen eine *Verzögerung* des im Laufe der Heilung stattfindenden Regenerationsprozesses. Auffallend ist das Steigen der Erythrozyten, weil sie eine längere Lebensdauer haben als bei nicht mit Phosphor behandelten Tieren.

Aehnlich beobachtete *J. S. Lawrence* und *M. M. Huffman* (9) ein deutliches Ansteigen der Monozyten des strömenden Blutes nach subkutaner Einverleibung von in Oel gelöstem, gelbem Phosphor. Interessant ist, daß *F. Guccione* (4) eine Beziehung zur *Milz* konstatierte. Er fand Schädigungen der Megakaryozyten, des retikulo-endothelialen Ge-

webes des Knochenmarkes, der Milz und der Lymphdrüsen. Die Veränderungen sind schwerer bei entmilzten Tieren.

Die Behandlung der *Rachitis* mit Phosphor-Lebertran hat Margerit *Haase-Koeppe* (5) eingehend behandelt. Sie legt den Hauptwert darauf, daß ein P-Zusatz von 0,01% das Sauerwerden des Lebertrans verzögert, und während mit dem leichten Sauerwerden des Lebertrans auch der antirachitische Faktor beeinträchtigt wird, bleibt der Phosphor-Lebertran von Oxydationen geschützt länger neutral und voll wirksam.

Gegen die Kombination von Phosphor mit Vigantol scheinen Versuche von *H. Seel* (11) zu sprechen. Nach Beginn der Fütterung mit D-Vitamin-freier Kost erfolgt eine Einschränkung des Ruheumsatzes. Phosphor vermag die eingeschränkten Oxydationsvorgänge im Organismus weitgehend zu steigern. Hierbei nahm aber das Gewicht der Phosphortiere nur anfangs in geringem Maße zu, später erfolgte wieder eine Gewichtsabnahme. Die Vermehrung der Oxydationen im Organismus durch Phopshor bewirkt also keine oder doch nur eine geringe Assimilation. Die rachitischen Knochenveränderungen wurden ebenfalls nicht geheilt. Vigantol steigert die gesunkenen Oxydationsvorgänge ebenfalls sehr stark, gleichzeitig aber erfolgt Körpergewichtszunahme und außerdem Heilung der rachitischen Knochenveränderungen.

Ein interessantes, antagonistisches Verhältnis zwischen dem Phosphor und dem entgiftenden Hormon der Leber haben *Kyomatsu Asakura* und *Tatsuo Sato* (1) aufgedeckt; letzteres kann schon in relativ geringen Dosen eine subakute Phosphor-Vergiftung des Kaninchens verhindern.

Anhangsweise sei eine interessante und wertvolle Arbeit von *F. Zernik* (14) über die *perkutane* Phosphorwirkung erwähnt. Aufbringen von Phosphor auf die Haut des Meerschweinchens kann lokale Gewebsschädigung, subkutane, zirkumskripte Eiterungen und Blutungen, außerdem Nekrose, Haarausfall und Schorfbildung erzeugen. Resorptiv ruft auf die Haut aufgebrachter Phosphor die für Phosphorvergiftung typischen Blutungen im Herzmuskel, in der Pleura, in der Leber, im Darm und namentlich in der Serosa des Magens hervor. Die Blutungen im Magen sind ihrem äußeren Aussehen nach besonders charakteristisch.

Die Bestimmung des Phosphors in der Phosphor-Medikation erschien mir von besonderer Bedeutung zu sein, da es sich ja um einen Stoff von außerordentlicher Giftigkeit handelt (Maximaldosis pro die 0,003!) und erfahrungsgemäß die käuflichen Präparate häufig nicht dem deklarierten Wert entsprechen. An Methoden, die vorgeschlagen wurden, erwähne ich aus neuester Zeit die folgenden:

Drießen Marieuw, van P. W. (3) gibt eine quantitative Bestimmung in Phosphorölen an. Er oxydiert mit Wasserstoffsuperoxyd und verfährt im Sinne folgender Gleichungen:

$$2P + 5\,H_2O_2 = P_2O_5 + 5H_2O$$
$$2P_2O_5 + 3H_2O + 4KOH = 2K_2HPO_4 + 4H_2O$$

1 ccm n-KOH = 0,31 mg Phosphor.

Th. F. Buehrer und *O. Schupp* (2) verwenden die Reaktion zwischen elementarem Phosphor und Kaliumjodat und gründen darauf eine volumetrische Bestimmung.

Eine sehr bequeme kolorimetrische Messung hat auch *C. Stich* (12) angegeben, indem er in einer alkoholisch-ätherisch-azetonischen Lösung mit einer gesättigten Lösung von Silbernitrat in Azeton fällt und die Farbenintensität mit einer entsprechenden Standardlösung vergleicht.

Ueber Arbeiten von *W. Straub* (13) und *Christomannos* siehe weiter unten.

Von den vielen Methoden, die zur Bestimmung des elementaren Phosphors angewandt wurden, scheint die empfindlichste die mit Silbernitrat zu sein. In einer sehr sorgfältigen Arbeit aus dem Reichsgesundheitsamt in Berlin hat *A. Siemens* nachgewiesen, daß man auf diesem Wege noch 0,0008 mg Phosphor in einem ccm Benzol nachweisen kann. Ich habe zunächst versucht, diese Methode in der Art zu benutzen, daß ich den Grenzwert für die Verdünnung festzustellen suchte, doch gibt diese Methode nicht so sichere Resultate, daß man sie gut verwenden kann, zumal ja auch der Multiplikationsfaktor außerordentlich groß ist.

Ich bin daher dazu übergegangen, titrimetrische quantitative Bestimmungen auszuführen, zunächst indem ich versuchte, den Ueberschuß des Silbers zu titrieren, was sich aber auch als nicht genügend exakt herausstellte. Es ist besser den Niederschlag abzuscheiden, am besten durch Zentrifugieren; in ihm kann man dann entweder das Silber oder den Phosphor bestimmen. Letzteres wurde, weil es exakter ist, vorgezogen, zumal der Phosphor im Silberphosphid durch Salpetersäure (oder jedes beliebige Oxydationsmittel) leicht oxydiert werden kann. Man kann dann weiter jede von den vielen Phosphatbestimmungsmethoden anwenden, die in den letzten Jahren vorgeschlagen worden sind. Ich habe mich hauptsächlich an die ältere Molybdänmethode gehalten, die gute Resultate liefert, wenn man dabei folgende Vorsichtsmaßregeln befolgt:

0,5 ccm des zu untersuchenden Phosphoröles werden in einem 10,0 ccm Meßkölbchen etwa 1 Minute lang mit Aether geschüttelt. Von dieser ätherischen Oellösung wird zur Analyse je 1,0 ccm in ein Zentrifugenglas gegeben (entsprechend einem Phosphorgehalt von etwa 0,5 mg), dann fällt man den elementaren Phosphor mit 2—3 ccm azetoniger Silbernitratlösung, ev. unter leichtem Erwärmen (rasches Arbeiten der hochprozentigen Aetherlösung wegen!). Der Niederschlag wird zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgegossen.

Zur Ueberführung des Phosphids in das Phosphat benutzt man konzentrierte Salpetersäure und setzt von ihr soviel zu, bis sich der Niederschlag vollständig gelöst hat und nach Abdampfen der Nitrosedämpfe eine klare Lösung zurückbleibt. Man trage dabei Sorge nicht zu wenig Salpetersäure zuzusetzen im Interesse einer restlosen Oxydation, doch dürfte man für obige Quantitäten mit 1,0—1,5 ccm konzentrierter HNO_3 stets auskommen.

Diese saure Phosphatlösung wird nun mit 6,0 ccm H_2O ver-

dünnt, mit konzentrierter Ammoniak-Lösung neutralisiert und mit ca. 6,0 ccm Ammoniumnitrat und 2—3 ccm Ammoniummolybdat versetzt. Die Zentrifugengläser werden in ein heißes Wasserbad gebracht und erst jetzt wird vorsichtig tropfenweise, konzentrierte Salpetersäure zugegeben bis der Phosphor-Ammoniummolybdän-Niederschlag sich zu bilden beginnt. Auf diese Weise vermeidet man am sichersten eine Uebersäuerung des zu untersuchenden Materials. Nach ca. 15 Minuten werden die Gläser noch heiß zentrifugiert, dann wird sorgfältig abgegossen und der gelbe Niederschlag so oft mit kaltem H_2O ausgewaschen und immer wieder zentrifugiert, bis die überstehende Flüssigkeit neutral ist. Der Niederschlag wird hierauf mit $^n/_2$-Natronlauge bis zur klaren Lösung gelöst (Zufließenlassen durch Bürette) und die überschüssige Natronlauge mit Phenolphthalein als Indikator und $^n/_2$-Schwefelsäure zurücktitriert. Die Differenz der gebrauchten Natronlauge minus Schwefelsäure in ccm, multipliziert mit 1,268 als Faktor gibt uns die vorhandene Menge Phosphor-Pentoxyd, woraus der Phosphor berechnet werden kann.

Wird mit Lebertran gearbeitet, so nimmt man 5—10 ccm, schüttelt mit ebensoviel Aether und macht mit azetoniger Silbernitratlösung die Silberfällung. Im übrigen das gleiche Verfahren wie oben angegeben.

Wichtig war es, daß man ev. auch den in anderer Form gebundenen Phosphor zu bestimmen suchte, der neben elementarem Phosphor in den Lösungen vorhanden war, zumal es sich bald zeigte, daß einzelne käufliche Präparate daran ziemlich reich sind. Nach längerem Ausprobieren wurde in folgender Weise vorgegangen: Zur Abscheidung von anorganischem Phosphat wurde die ätherische Lösung der Oele mit Wasser ausgeschüttelt und durch Kontrollversuche bewiesen, daß auf diesem Wege eine quantitative Trennung der Phosphate möglich ist. Zur Bestimmung der esterartig gebundenen Phosphate wird eine Gesamtphosphatbestimmung ausgeführt; bei den großen Quantitäten Oel und den relativ kleinen Quantitäten an Phosphor kann man hierbei nicht die feuchte Veraschung anwenden, sondern muß dazu in der üblichen Art die trockene Veraschung mit Soda und Salpeter benutzen, die auch gute Resultate gab.

Resultate.

1. Ol. phosph. (Pharmac. helv.)

Phosph. 1,0, Ol. amygd. 96,0, Alcoh. abs. 3,0, Natr. sulf. sicc. 5,0.

Nach Vorschrift hergestellt und *nach 2 Monaten* analysiert.

In 0,1 ccm Ol. phosph. gefunden:
Analyse: 1. 0,652 mg
2. 0,642 mg } 0,653 mg statt theor. ca. 1,0
3. 0,664 mg

2. „*Phoskolat.*“ Nervenerquicker. A. L. Laboratorium zu Gröba-Riesa, Apotheker Felix Rahnfeld.

Enthält Kolanin, Arnizin, leicht assimilierbaren Phosphor, Extract. chinae compos.

Dosierung bis zu 25 Tropfen 3mal täglich in einer beliebigen Flüssigkeit.

In 1 ccm: Analyse 1. 0,842 mg
2. 0,84 mg
3. 0,84 mg
4. 0,772 mg

3. Phosphoröl von Apotheken:

I. Ap. Sp. In 0,1 ccm (theor. 1.0 mg P.).
Analyse 1. 0,442 mg
2. 0,464 mg

II. Ap. R. in 0,1 ccm:
Analyse 1. und 2. 0,498 mg.

III. Ap. G. In 0,1 ccm:
Analyse 1. und 2. 0,554 mg.

Wir haben also annähernd untereinander übereinstimmende Werte um einen Mittelwert von ca. 0,5 mg statt theor. 1,0.

4. Phosph. solutus D. A. B. 6.

Phosph. 1,0, Paraff. liquid. 194,0, Aether 5,0.
In 0,2 ccm theor. ca. 1,0 mg.
Analyse: 1. 0,735 mg
2. 0,724 mg

5. Lebertran:

I. Fabrikpräparate:

a) *Eujecor* Phosphorlebertran 0,025/300.
Dosierung 2mal täglich 1—1½ Eßlöffel.
In 12 g (theor. 1 mg P.)
Analyse: 1. 0,104 mg
2. 0,096 mg

b) *Phosanit.* H. Stumpf A. G., Chemnitz.

0,01% Phosphorlebertran mit Limonen gegen Oxydation des Phosphors konserviert und aromatisiert.

In 5,0 ccm theor. 1,0 mg.
Analyse: 1. und 2. 0,842 mg.

c) *Phosjecorin „Zalewski“* H. A. Zalewski A. G. Honneff a. Rhein.

Ein haltbarer Phosphorlebertran, enthält 1 A. 0,01% Phosph.
In 0,5 ccm theor. ca. 1,0 mg.
Analyse: 0,555 mg.

Im Phosphorlebertran der Apotheken ist der P-Gehalt entsprechend dem P-Gehalt des Phosphoröles.

Während ich noch mit diesen Arbeiten beschäftigt war, erschien eine Arbeit von *W. Straub* (13), der bereits früher darauf hingewiesen hatte, elementaren Phosphor mit Hilfe von Kupfersalzen abzuscheiden. *Christomannos* hatte auch gezeigt, daß man diesen Kupferniederschlag mit Brom oxydieren, dann mit konzentrierter Salpetersäure abrauchen und nach Zusatz von Ammoniak usw. eine Fällung der Phosphate mit Magnesiamischung vornehmen kann. In viel einfacherer Weise schlägt *Straub* neuerdings vor, die gerade erreichbare Grenze beim Schütteln mit Kupfersulfat zu bestimmen. Ich habe nach dem Erscheinen der Straub'schen Arbeit einen Vergleich seiner Methode mit meiner an einigen Handelspräparaten angestellt.

Material	Straub		Silbermethode
I Phosanit	zieml. schwarz	$> 0{,}66 < 1{,}3$	0,842 mg
II Phosjecorin Zalewski	braun	ca. 0,66	0,556 „
III Tran G.	leicht grau	$> 0{,}33 < 0{,}66$	0,509 „
IV „ S.	„	$> 0{,}33 < 0{,}66$	0,51 „
V „ m. phos. sol. D.AB.-6	zieml. schwarz	$> 0{,}66 < 1{,}3$	0,735 „

Die vorstehende Tabelle zeigt, daß die mit beiden Methoden erhaltenen Werte gut übereinstimmen, nur ist es natürlich mit der Silbermethode möglich, die Werte exakter zu fassen, und ich möchte auch glauben, daß die Silbermethode mindestens ebenso schnell zum Ziele führt.

Zusammenfassend glaube ich, aus meinen Untersuchungen folgern zu können, daß man sich bezüglich des elementaren Phosphors auf die Deklaration der käuflichen Präparate ebensowenig absolut verlassen kann, wie das nach *Straub*'s und meinen Erfahrungen bezüglich der in den Apotheken vorrätig gehaltenen Mixturen der Fall ist. Ich glaube aber, daß eine exakte Gehaltsbestimmung notwendig ist, gerade da jetzt der Phosphorlebertran ein wichtiges Arzneimittel auch für die Tuberkulose-Bekämpfung zu werden scheint. Daß dies ohne große Schwierigkeiten mit Hilfe der Silbernitratmethode leicht möglich ist, hoffe ich durch meine obigen Untersuchungen gezeigt zu haben.

Als Anhang einige ausgewählte Protokolle.

Versuch über das Optimum der Molybdat-Fällung ohne Ausfällung eines sauren Salzes:

Ammoniumchlorid.

Ammoniak	H_1		P
$^{32}/_1$	4,19	10^{-8}	7,38
$^{16}/_1$	2,10	10^{-8}	7,68
$^{8}/_1$	1,05	10^{-8}	7,98
$^{4}/_1$	0,52	10^{-8}	7,28
$^{2}/_1$	0,26	10^{-8}	8,58
$^{1}/_1$	0,13	10^{-8}	8,89
$^{1}/_2$	0,65	10^{-9}	9,19
$^{1}/_4$	0,33	10^{-9}	9,48
$^{1}/_8$	0,17	10^{-9}	9,77
$^{1}/_{16}$	0,82	10^{-10}	10,09
$^{1}/_{32}$	0,41	10^{-10}	10,39

Bis zu $^{8}/_1$; Lösung des sauren Salzes ohne Lösung des Molybdänniederschlages, also bis P_H ca. 7,98.

Versuch A.

I. 0,25 m/15 K_2HPO_4, 7,5 ccm H_2O, 0,25 ccm HNO_3 konz., 6,1 ccm NH_4NO_3 ^{1}/n, 2,0 ccm (NH_4) MO_4 ges. (Gleich weiter verarbeitet.)
II. Idem, über Nacht stehen gelassen.
III. 0,25 m/15 K_2HPO_4, 7,5 ccm H_2O, 6,1 ccm NH_4NO_3 ^{1}/n, 2,0 ccm $(NH_4)_2$ MO_4 ges., 3,0 ccm NH_3 ^{2}/n + 2 gttae Methylrot.
Nach Erhitzen HNO_3 konz. tropfenweise bis zur Ausfällung und sofort weiter behandeln.

Befund.

I. n/2 NaOH 1,05
H_2SO_4 0,275
0,775 . 1,268 . 0,437 = *0,429 mg.*
II. geht nicht, da die sauren Salze ausfallen.
III. n/2 NaOH a) 0,85 b) 1,07
n/2 H_2SO_4 0,075 0,2
0,775 0,87
= *0,429 mg* = *0,45 mg.*

Versuche wie Sub. III mit einigen Modifikationen.

I ohne H_2O.
II Genau nach Vorschrift.
III 20' gekocht.
IV Ueberschuß an HNO_3 und Molybdat.

Befund	I	II	III	IV
n/2 NaOH	0,97	0,85	1,0	1,40
n/2 H_2SO_4	0,13	0,12	0,10	0,12
	0,84	0,73	0,90	1,28

= 0,465 mg = 0,40 mg = 0,49 mg

Bei IV fällt das saure Salz aus und wir bekommen daher einen zu hohen Wert für n/2 NaOH.

Nach dem Verfahren der Modifikation III haben wir das Optimum der Fällung, wir machen darum vergleichende Analysen mit dieser Methode (20 Minuten kochen!).

Befund	I	II	III	IV
n/2 NaOH	0,98	0,95	0,96	1,0
n/2 H_2SO_4	0,1	0,07	0,07	0,1
	0,88	0,88	0,89	0,9
	= 0,487 mg	= 0,487 mg	= 0,493 mg	= 0,4987 mg
Genauigkeit	97%	97%	99%	100%

Diese Methode ist also für unsere Zwecke ausreichend genau.

Literatur.

1. *K. Asakura* und *T. Sato* (Tohoku Journ. exp. Med. 14, 180, 1929). — 2. *Th. F. Buehrer* und *O. Schupp* (Journ. amer. chem. soc. 49, 9). — 3. *P. W. van Driessen Marieuw* (Pharm. Weebl. 63, 1309, 1926). — 4. *F. Guccione* (Hämatol. 10, 63, 1929). — 5. *Marg. Haase-Koeppe* (Arch. f. Kindhlk. 85, 257, 1928). — 6. *H. Hayashi* (Med. biol. Z. 5, 97, 1929). — 7. *M. M. Huffmann* (Arch. of. Path. 7, 813, 1929). — 8. *A. Huruya* (Journ. of biochem. 10, 63, 1928). — 9. *J. S. Lawrence* und *M. M. Huffman* (Arch. of. Path. 7, 813, 1929). — 10. *O. Schupp* (Journ. amer. chem. soc. 49, 9). — 11. *H. Seel* (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 140, 194, 1929). — 12. *C. Stich* (Zschr. f. ang. Chem. 40, 1014, 1927). — 13. *W. Straub* (M. m. W. 50, 1145, 1903 u. 77, 577, 1930, Zschr. f. anorg. Chem. 35, 460, 1903). — 14. *F. Zernik* (Zschr. f. exp. Med. 70, 1, 1929).